

На правах рукописи

Кузнецов Степан Валерьянович

**ЗНАЧЕНИЕ МЕТАБОЛИТОВ СИМБИОНТНОГО
ПИЩЕВАРЕНИЯ ПРИ СТРЕССЕ**

14.03.03 – патологическая физиология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Екатеринбург – 2013

Работа выполнена в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Пермская государственная медицинская академия имени академика Е.А.Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор **КУЗНЕЦОВ Валерьян Федорович**

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор ГБОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия» Минздрава России, заведующий кафедрой биологии **МАКЕЕВ Олег Германович**

Доктор медицинских наук, профессор ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, заведующая кафедрой патологической физиологии **КРИВОХИЖИНА Людмила Владимировна**

Ведущая организация: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Нижегородская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «19» июня 2013 года в 10 часов на заседании Совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Д.208.102.03 созданного на базе Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 620028, Екатеринбург, ул. Репина, д.3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке имени В.Н. Климова ГБОУ ВПО «УГМА» Минздрава России по адресу: 620028, Екатеринбург, ул. Ключевская, д.17, а с авторефератом на сайте ВАК Министерства образования и науки РФ: www.vak.ed.gov.ru и на сайте академии www.usma.ru

Автореферат разослан « ____ » _____ 2013 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук,
вич
профессор

БАЗАРНЫЙ
Владимир Викторович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. В связи с последними научными достижениями все большее значение придается симбионтному пищеварению (Бондаренко В.М., и др., 2005; Ардатская М.Д., Минушкин О.Н., 2006; С. В. Бельмер., 2006), которое происходит под влиянием ферментов микроорганизмов толстой кишки и приводит к образованию вторичных нутриентов (Уголев А.М., 1988), таких как короткоцепочечные жирные кислоты. К ним относятся уксусная (C2), пропионовая (C3), масляная (C4), валериановая (C5) и капроновая (C6) кислоты, образующиеся при ферментации нормофлорой пищевых волокон (Hamer H.M., 2009; Komiyama Y., et al., 2011; Souza da Silva C., et al., 2013).

В пище современного человека содержание пищевых волокон составляет менее 30% от нормы, что является фактором риска формирования ряда патологических процессов (Покровский В.И. и др., 2002). Таким образом, пищевые волокна являются важнейшим компонентом функционального питания, обеспечивающего потребности организма в нутриентах как в норме, так и при патологии.

Короткоцепочечные жирные кислоты обладают широким спектром адаптивных эффектов (противовоспалительный, иммуностропный, детоксикационный, антиканцерогенный и др.) (Andoh A., et al., 2003; Bindels L.B., et al., 2012; Ulven T., 2012; Wang H., et al., 2012). Недостаточно изучены в эксперименте на животных возрастные особенности соотношения короткоцепочечных жирных кислот и серотонина, повреждения и регенерации гепатоцитов, а также выраженность других маркеров стресса. Остается открытым вопрос и о принципах патогенетической коррекции последствий стресса в возрастном аспекте.

Установлены возможности уменьшения выраженности постстрессорной бактериемии, а также провоспалительной гиперцитокинемии при использовании диеты, обогащенной натуральными комплексами ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот (Косарева П.В., 2010; Кузнецов В.Ф., и др., 2010). Представляется актуальным – с учетом указанных данных – использование этих комплексов для коррекции других постстрессорных сдвигов.

Цель работы – исследование механизмов влияния метаболитов симбионтного пищеварения на морфофункциональные проявления стресса в возрастном аспекте в эксперименте.

Задачи исследования

1. Изучить возрастные аспекты соотношения эндокринных и нейромедиаторных сдвигов на фоне комбинированного стресса при использовании типовой диеты и диеты, обогащенной натуральными комплексами ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот.
2. Исследовать возрастные особенности реакции лимфоидной ткани и крови, а также изменения маркеров регенерации и повреждения гепатоцитов при комбинированном стрессе в зависимости от диеты.
3. Оценить взаимосвязи уровней короткоцепочечных жирных кислот крови с морфологическими и гематологическими показателями при стрессе в зависимости от наличия или отсутствия в диете натурального комплекса ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот.
4. Изучить влияние функционального питания, включающего натуральные комплексы ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот, на поведение старых животных при их тестировании в условиях открытого поля.

Научная новизна. Впервые при стрессе в возрастном аспекте изучено значение короткоцепочечных жирных кислот, заключающееся в уменьшении морфофункциональных проявлений стресса. Исследование проведено при добавлении в рацион животных (группа старых животных и группа молодых животных) натуральных комплексов трудно ферментируемых пищевых волокон – предшественников короткоцепочечных жирных кислот – и короткоцепочечных жирных кислот.

При типовой диете у старых животных, в отличие от молодых, отмечается снижение содержания серотонина в тромбоцитах, объема белой пульпы селезенки, регенеративной активности гепатоцитов, а также увеличение в крови лейкоцитов за счет палочкоядерных нейтрофилов. Кроме того, отмечены проявления стресса, соизмеримые с аналогичными показателями у молодых животных, такие как увеличение ширины пучковой зоны коры надпочечников, количества гепатоцитов с признаками повреждения и уменьшение объема светлых центров Пейеровых бляшек.

Использование натурального комплекса ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот (биологически активная добавка к пище «Рекицен-РД») привело к следующим сдвигам. Произошло устранение различий клеточного состава крови. Серотонин в тромбоцитах возрос в обеих группах. Отсутствовала гиперплазия пучковой зоны коры надпочечников. Объем белой пульпы селезенки увеличился, а количество ге-

патоцитов с признаками повреждения снизилось в обеих возрастных группах. Регенераторный потенциал гепатоцитов возрос у старых животных (последние данные отражены в положительном решении по заявке на изобретение №2012113449/15 от 06.04.2012 «Способ профилактики возрастных изменений печеночной ткани в эксперименте»). При изучении поведения старых животных в открытом поле было обнаружено, что функциональное питание приводит к уменьшению времени выхода их из центрального квадрата, увеличению времени груминга, снижению количества актов урикации и дефекации, уменьшению вариабельности результатов внутри групп. Это свидетельствует об уменьшении степени тревоги и страха в новых условиях.

Патогенетической основой протективных эффектов натуральных комплексов ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот является оптимизация активности стресслимитирующих систем.

Теоретическое и практическое значение работы. Результаты исследования расширяют представление о роли симбионтного пищеварения при стрессорном повреждении и позволят повысить эффективность и безопасность лекарственной терапии при стрессорной патологии. Гепатопротекторные эффекты использованного функционального питания обеспечивают возможности профилактики заболеваний печени у пациентов со сниженной репарацией гепатоцитов.

Полученные результаты используются в практической работе Кировского НИИ гематологии и переливания крови (г. Киров), центра гепатопанкреатобилиарной хирургии ГБУЗ КМСЧ №1 (г. Пермь). Они также внедрены в учебный процесс кафедры хирургии с курсом анестезиологии и реаниматологии ИПО в ГБОУ ВПО «Кировская ГМА» Минздрава России (г. Киров), кафедры хирургических болезней медико-профилактического факультета с курсом гематологии и трансфузиологии ФПК и ППС ГБОУ ВПО «ПГМА им. ак. Е.А. Вагнера» Минздрава России. Получено положительное решение по заявке на изобретение №2012113449/15 (Кузнецов С. В., с соавторами «Способ профилактики возрастных изменений печеночной ткани в эксперименте» от 06.04.12).

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены на XXI съезде физиологического общества имени И.П. Павлова, 19–25 сентября 2010 г. (Калуга, 2010); на научной сессии ГБОУ ВПО «ПГМА им. ак. Е.А. Вагнера» Минздрава России (Пермь, 2011); на Всероссийской конференции с международным участием, ГОУ ВПО Кировская ГМА, 18 февраля 2011 (Киров, 2011); на X международной научно-практической конференции «Лекар-

ство и здоровье человека», 13–14 октября (Астрахань, 2011); на VI Межрегиональной научно-практической конференции гастроэнтерологов Приволжского федерального округа 4–5 апреля 2012 года (Н. Новгород, 2012); на Всероссийской научно-практической конференции «Современные геронтологические технологии: нарушения обмена веществ и патология опорно-двигательного аппарата» 28 ноября 2012 года (Пермь, 2012) и отражены в тезисах докладов и в материалах конференций.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 19 печатных работ, из которых 7 публикаций в рецензируемых изданиях, рекомендуемых ВАК Министерства образования и науки РФ, и одна монография. Имеется положительное решение по заявке на изобретение.

Личный вклад автора. Весь материал, представленный в диссертации, получен, статистически обработан и проанализирован лично автором. Выполнение морфометрических исследований проведено при участии старшего научного сотрудника отдела морфологических и патофизиологических исследований ЦНИЛ ГБОУ ВПО «ПГМА им. ак. Е.А. Вагнера» Минздрава России к.м.н. В. П. Хоринко (зав. д.м.н. П.В. Косарева); изучение концентрации короткоцепочечных жирных кислот в крови проведено при участии преподавателя кафедры нормальной физиологии ГБОУ ВПО «ПГМА им. ак. Е.А. Вагнера» Минздрава России С.Г. Езова.

Положения, выносимые на защиту

1. У старых животных, в сравнении с молодыми, при остром холодовом стрессе отмечено снижение активности серотонинэргических структур, объема белой пульпы селезенки и регенеративной активности гепатоцитов, наблюдается увеличение лейкоцитов крови за счет палочкоядерных нейтрофилов. У старых и молодых животных отмечены также общие проявления стресса: увеличение ширины пучковой зоны коры надпочечников и количества поврежденных гепатоцитов, уменьшение объема светлых центров Пейеровых бляшек.

2. Использование натуральных комплексов ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот при комбинированном стрессе приводит к устранению возрастных различий клеточного состава крови и содержания серотонина в тромбоцитах, отсутствию гиперплазии пучковой зоны коры надпочечников, увеличению объема белой пульпы селезенки, снижению количества гепатоцитов с признаками повреждения и увеличению регенераторного потенциала гепатоцитов у старых животных.

3. Особенности корреляционных взаимосвязей концентрации короткоцепочечных жирных кислот в крови с морфофункциональными показателями зависят от наличия или отсутствия в диете натурального комплекса ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот.

4. Функциональное питание, использованное в работе с экспериментальными животными, приводит к уменьшению уровня страха и тревоги, что проявляется в уменьшении времени выхода из центрального квадрата, увеличению времени груминга, снижению количества актов уринации и дефекации у старых крыс, отмеченных при изучении их поведения в открытом поле.

Объем и структура диссертации. Работа изложена на 163 страницах, состоит из введения, 5 глав (обзор литературы, материалы и методы исследований, собственные исследования), обсуждения, выводов. Работа включает 14 таблиц, 3 схемы и 8 рисунков. Список литературы включает 94 отечественных и 188 иностранных источников.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы. Работа включает экспериментальные, гематологические, морфометрические, химические и статистические методы.

Исследование выполнено на самцах белых беспородных крыс в возрасте 6 месяцев и старше 1,5 лет. Масса молодых животных составила 231 (224–258) грамма. Масса старых животных составила 268 (228–318) грамма. Различий между группами в весе не выявлено ($p_U=0,0714$), что связано с наличием на поздних этапах старения саркопении и инволюции внутренних органов. Животных содержали в стандартных условиях экспериментально-биологической клиники – вивария (свободный доступ к пище и воде и 12–14-часовой световой день).

Молодых самцов содержали совместно с самками, что приводило к формированию полового и социального поведения, проявляющегося в агрессии. Это сочетается с увеличением веса надпочечников и уровня кортикостероидов в крови (Taylor G.T., et al., 1986; Clougherty J.E., et al., 2010). Животные в возрасте 6 месяцев разделены на следующие группы:

1-я группа (стресс-контроль) – возраст 6 месяцев; содержалась на типовом рационе, подвергалась холодовому воздействию ($n=7$);

2-я группа (стресс-воздействие) – возраст 6 месяцев; содержалась на типовом рационе, дополнительно в течение 14 дней получала БАД «Рекицен-РД», затем подвергалась холодовому воздействию ($n=7$).

Поскольку старение – это вариант физиологического стресса, поэтому животные в возрасте старше 18 месяцев разделены на следующие группы:

3-я группа (условный контроль) – возраст старше 1,5 лет; содержалась на типовом рационе (n=8);

4-я группа (стресс-контроль) – возраст старше 1,5 лет; содержалась на типовом рационе, подвергалась холодовому воздействию (n=8);

5-я группа – возраст старше 1,5 лет; получала типовой рацион с добавлением БАД «Рекицен-РД» в течение 14 дней, (n=7);

6-я группа (стресс-воздействие) – возраст старше 1,5 лет; получала типовой рацион с добавлением БАД «Рекицен-РД» в течение 14 дней, затем подвергалась холодовому воздействию (n=8).

Условно контрольная группа старых животных сформирована для изучения влияния натурального комплекса КЦЖК и ФПВ на проявления физиологического хронического стресса. Условный контроль целесообразен, поскольку в доступной литературе отсутствуют данные о наличии у старых крыс агрессии, связанной с социальным стрессом.

Исследования выполнены в соответствии с общепринятыми этическими нормами. Учтены «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 г. N 755), «Европейская конвенция о защите животных, используемых для экспериментов или в иных целях» от 18 марта 1986 г. Исследования проведены в Центральной научно-исследовательской лаборатории ГБОУ ВПО ПГМА им. ак. Е.А. Вагнера Минздрава России, имеющего разрешение на работу с экспериментальными животными.

Животные получали типовой рацион вивария (Приказ Минздрава СССР от 10 марта 1966 г. № 163; приказ Минздрава СССР от 10.10.83 № 1179 (п. 4.1). В качестве компонента функционального питания использовали биологически активную добавку к пище «Рекицен-РД®». Название продукта образовано в результате сокращения словосочетания «регулятор кишечных ценозов растительно-дрожжевой». БАД «Рекицен-РД» включает натуральный комплекс ФПВ и КЦЖК (регистрационное свидетельство № RU.77.99.11.033.E. 005203.03.12 от 15.03.2012).

Изучено содержание КЦЖК в этом продукте методом газожидкостной хроматографии в лаборатории генетики вирулентности бактерий НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН профессором В.М. Бондаренко. В БАД «Рекицен-РД» содержатся все виды КЦЖК. Их соотношение и концентрация соответствует норме для просвета толстого кишечника человека. Энтеральное ис-

пользование этого продукта на первом этапе обеспечивает устранение дефицита КЦЖК (Кузнецов В.Ф., Кулемин Л.М. Бондаренко В.М., 2007). На втором этапе в толстом кишечнике происходит метаболизация нормофлорой ФПВ, содержащихся в БАД «Рекицен-РД», с образованием новых порций КЦЖК. Таким образом, корпускулы ФПВ являются предшественниками новых порций КЦЖК.

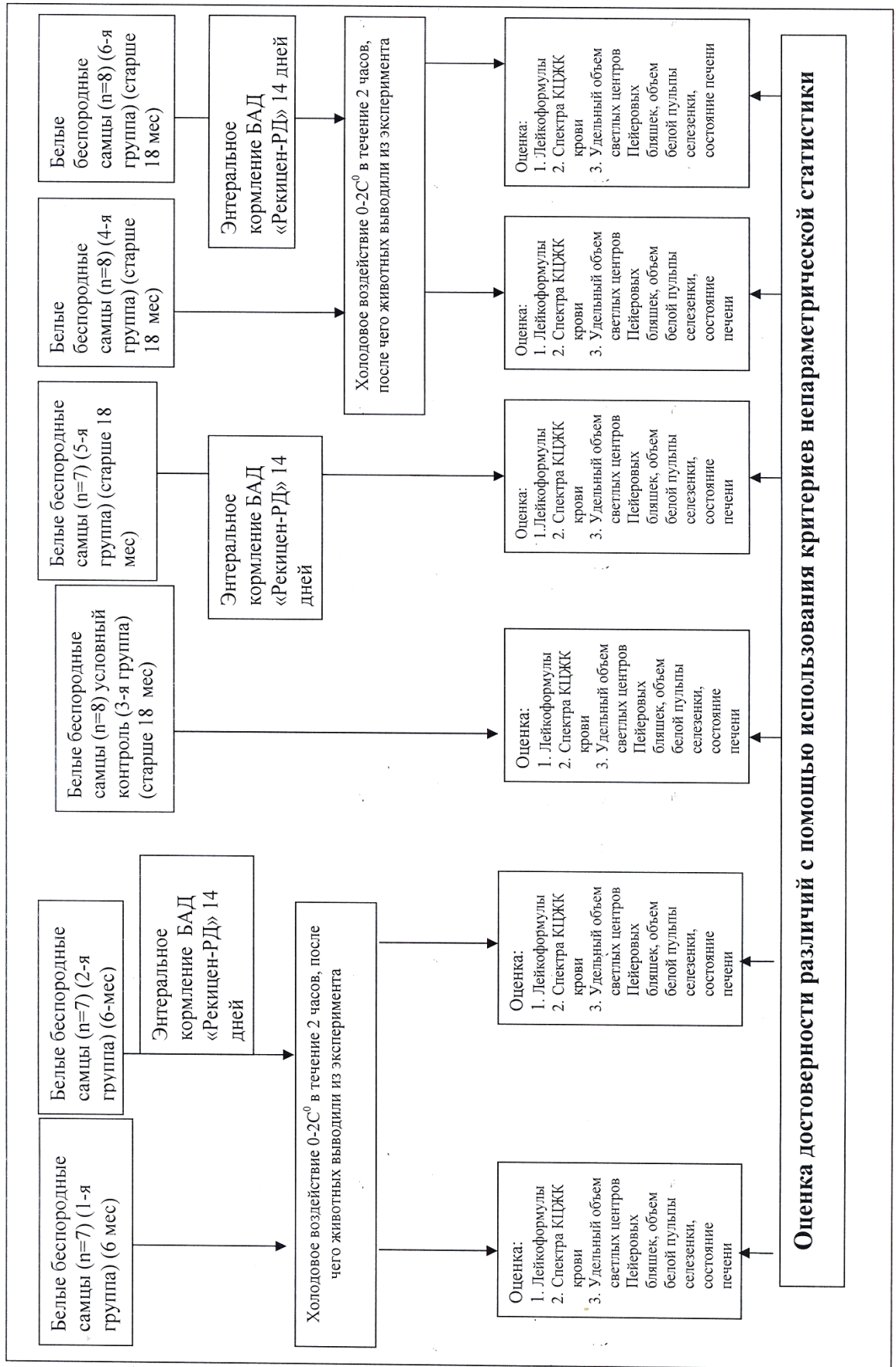
Продукт используют для устранения в питании дефицита пищевых волокон, а это обеспечивает профилактику воздействий неблагоприятных экологических и производственных факторов, при повышенном риске формирования дисбактериоза, онкологических заболеваний, сахарного диабета, иммунной недостаточности (Кузнецов В.Ф., и др., 2007).

БАД «Рекицен-РД» применяют в дополнение к лекарственной терапии при широком спектре заболеваний человека и животных. Прием данного продукта усиливает эффективность лекарственной терапии при инфекционном простатите (Давидов М.И., и др., 2010), сальмонеллезе у детей (Золотарев Ю.В., 2000), пиелонефрите у детей (Косарева П.В., 2010), при химиотерапии неходжкинских лимфом (Загоскина Т.П., и др., 2003), лучевой терапии при онкологической патологии (Василькова Н.И., Ананьева Е.Н., 2005), туберкулезе (Мотовилова В.П., Дейниченко Е.А., 2001) и других заболеваниях человека. БАД «Рекицен-РД» выпускается ЗАО «Ягодное», г. Киров, д. Югрино.

Данный продукт после механического измельчения в ступке добавляли в корм в количестве 1,5–2 грамм в сутки. При подборе дозировок натурального комплекса ФПВ и КЦЖК (БАД «Рекицен-РД») учитывали рекомендации Buddington K.K., Donahoo J.B., Buddington R.K. (2002).

В ходе исследования часть животных подвергалась острому холодовому стрессу (Аверьянова Н.И. и др., 2008). Животные в индивидуальных боксах в течение 2 часов находились при температуре 0-(+2)°С. Затем их в течение 20–30 минут выводили из эксперимента путем перерезки спинного мозга под эфирным наркозом с соблюдением правил эвтаназии. После наступления биологической смерти в асептических условиях забирали кровь и органы: надпочечник, селезенку, Пейеровы бляшки (агрегированные лимфоидные узелки), печень. Для определения общего количества лейкоцитов и лейкоформулы использовали рутинные лабораторные методы (Никитин В.Н., 1949; Козловская Л.В., Мартынова М.А., 1975). Исследование количества гранул серотонина в тромбоцитах крови осуществлено с использованием гистохимического метода Фонтана—Массона (Лили Р., 1969; Саркисов Д.С., Перов

Схема экспериментального исследования влияния влияния комплекса КЦЖК и ФПВ на морфофункциональные проявления стресса



Ю.Я. 1996). Приготовление и окраску гистологических препаратов осуществляли с использованием общепринятых методов (Лили Р., 1969).

Исследование относительной ширины пучковой зоны коры надпочечников осуществляли согласно общепринятым методам (Колдышева Е.В., 2008, Солодкова О.А., 2010). При изучении объема белой пульпы селезенки установлена высокая вариабельность показателя в серии гистологических срезов у одного животного. Для большей точности исследования в серии гистологических срезов при минимальном увеличении микроскопа выбирали 2-3 участка, содержащих визуально наименьший и наибольший объем белой пульпы, затем определяли процентное содержание лимфоидной ткани (Моталов В.Г., 2002). Для выполнения данных морфометрических исследований использовали специализированное программное обеспечение BioVision, version 4,0 (Австрия). Захват изображений осуществляли при помощи цифровой камеры для микроскопа САМ V200, Vision (Австрия).

В гистологических срезах Пейеровых бляшек во всех лимфатических узелках с помощью светового микроскопа и окуляра с микрометром определяли значение удельного объема светлого центра, после чего подсчитывали среднее значение показателя в каждом препарате.

В гистологических срезах ткани печени при помощи светового микроскопа под иммерсией (увеличение в 1000 раз) в толще печеночной дольки оценивали показатели, отражающие повреждение клеток – гепатоциты с признаками анизоцитоза (вариабельности клеток по величине) и ядерного и клеточного полиморфизма, и показатели, отражающие выраженность регенерации, – наличие двух- и трехядерных гепатоцитов (Саратиков А.С., и др., 2004; Антопольская Е.В., Швейнов И.А., 2006). Определяли относительное количество клеток Купфера (отношение количества клеток Купфера к количеству гепатоцитов, зафиксированных в полях зрения).

Исследование КЦЖК осуществляли на базе ООО «Лабораторные технологии» (г. Пермь) с использованием метода газожидкостной хроматографии (Иконников Н.С. и др., 2000) на газожидкостном хроматографе «Хромос ГМ-1000» (ООО «Хромос», Россия).

Изучение влияния натурального комплекса ФПВ и КЦЖК на поведение в условиях эмоционального стресса выполнено на 19 самцах белых крыс в возрасте старше 18 месяцев. Животных разделили на две группы. Первая группа – животные на типовом рационе, протестированные методом «открытое поле», которые после этого в течение 18 дней дополнительно получали БАД «Рекицен-РД» 1,5–2 грамма в сутки, а затем повторно подвергались ис-

следованию ($n=10$). Вторая группа – животные, в течение 18 дней получавшие типовой рацион вивария с добавлением БАД «Рекицен-РД» 1,5–2 грамма в сутки, после этого они подвергались исследованию в открытом поле ($n=9$).

Открытое поле – это камера 1 м в длину и 1 м в ширину, с высотой стенок 0,3 м, дно которой расчерчено на 25 равных квадратов, моделирующая новые, нетипичные условия для лабораторных крыс. До исследования животных на 3 мин. помещали в затемненный пенал размером 300 x 150 x 100 мм с отверстиями для доступа воздуха (Ломако В.В., Шило А.В., 2009; Симбирцев А.С. и др., 2009; Bronikowski A.M., et al., 2001; Brown R. E., et al., 1999). Все процедуры проводились с 15.00 до 17.00 часов. В условиях открытого поля определяли комплекс показателей. К показателям, отражающим тревогу, относилось общее количество дефекаций и уринаций, общее число актов короткого груминга. К показателям, отражающим исследовательское поведение в новых условиях, реализации которого мешает страх, относится горизонтальная (общее число пересеченных квадратов) и вертикальная активность (число вертикальных стоек), время выхода из центрального квадрата и время длительного груминга (Кузнецова Е.Г. и др., 2006; Ломако В.В., Шило А.В., 2009; Brown R. E., et al., 1999).

Статистический анализ результатов проводили с использованием методов непараметрической статистики (Гублер Е.В., Генкин А.А., 1973; Гланц С., 1998). В связи с неправильным распределением большинства выборок для описания полученных результатов вычисляли медиану (Me) и интерквартильный размах (25%–75%), являющийся интервалом между 25% и 75% квантилями. Для исследования множественных сравнений в зависимости от объема выборок применялись критерии Дункана и Ньюмена – Кейлса. Для сравнения результатов между двумя несвязанными группами применяли двусторонний (точный) критерий Манна – Уитни (U), для сравнения результатов между связанными группами применяли критерий Вилкоксона (W). Для оценки корреляционных взаимосвязей применяли метод Спирмена (R). Для оценки степени разброса результатов внутри связанных и несвязанных выборок использовали точный двусторонний метод Фишера (ТМФ).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Соотношение содержания серотонина в крови и ширины пучковой зоны коры надпочечников при стрессе

У старых интактных животных, получавших типовую диету, содержание серотонина в тромбоцитах было существенно выше, чем у животных, подвергнутых холодовому стрессу ($p_{3-4} < 0,01$, см. табл. 1). Таким образом, формирование стресса у старых животных сочетается с потреблением серотонина органами – мишенями стресса, например, для усиления регенеративной активности гепатоцитов.

Содержание серотонина в тромбоцитах у молодых животных, получавших типовой рацион, на фоне холодового стресса существенно выше, чем у старых животных ($p_{1-4} < 0,01$), а применение натурального комплекса ФПВ и КЦЖК устраняет данную закономерность ($p_{2-5} > 0,05$). Кроме того, у крыс, получавших функциональное питание, после холодового воздействия вне зависимости от возраста количество гранул серотонина было выше, чем у животных на типовом рационе ($p_{1-2} < 0,05$; $p_{4-6} < 0,05$). Изменения содержания гранул серотонина в тромбоцитах соотносили с относительной шириной пучковой зоны коры надпочечников, как с тестом, отражающим выработку глюкокортикоидных гормонов надпочечниками.

Ширина пучковой зоны надпочечников у старых животных на фоне типового рациона закономерно увеличивается при воздействии холодового стресса ($p_{3-4} < 0,05$, табл.2). Данное увеличение у старых крыс соизмеримо с изменениями у молодых животных ($p_{1-4} > 0,05$).

Таблица 1

Количество гранул серотонина на 100 тромбоцитов в условиях холодового стресса при использовании различных вариантов диеты

№ группы	Показатель	Статистические показатели		
		Me (25 %–75%)	n	P
1	Серотонин в тромбоцитах крови	173 (148–192)	6	$p_{1-2} < 0,05^1$
2		246 (202–259)	6	$p_{1-4} < 0,01^1$
3		156 (143–175)	7	$p_{2-6} > 0,05^2$
4		117 (109–125)	6	$p_{3-4} < 0,01^2$
5		186 (181–206)	6	$p_{5-6} > 0,05^2$
6		182 (161–207)	7	$p_{3-5} > 0,05^2$ $p_{4-6} < 0,05^2$ $p_{3-6} > 0,05^1$

Примечание: ¹ использование критерия Ньюмена-Кейлса, ² использование критерия Данна

При остром холодовом стрессе ширина пучковой зоны менее выражена у животных, получавших типовой рацион с добавлением БАД «Рекицен-РД» ($p_{1-2} < 0,01$; $p_{4-6} < 0,01$). Таким образом, натуральный комплекс ФПВ и КЦЖК

вне зависимости от возраста животных нормализует выработку глюкокортикоидов при стрессе, что может служить патогенетической основой препятствия формирования стрессорных повреждений.

При анализе корреляций выявлена отрицательная взаимосвязь (совокупность с 1 по 6 группу) количества гранул серотонина в тромбоцитах крови и относительной ширины пучковой зоны коры надпочечника ($R=-0,617$ $p=0,000047$). Следовательно, при стрессе вне зависимости от возраста большее количество гранул серотонина сочетается с менее выраженным увеличением ширины пучковой зоны коры надпочечников.

Общеизвестно, что активность антистрессорных систем в старости снижается. Содержание серотонина в крови коррелирует с его концентрацией в структурах нервной системы, особенно в гипоталамусе (Акинцева Ю.В., 2011; Schafer A., et al., 2009). Представленные факты, на наш взгляд, свидетельствуют о существенно более низких концентрациях этого нейромедиатора в нервных структурах при старении на фоне типового рациона вивария.

Таблица 2

Относительный объем пучковой зоны коры надпочечников в условиях холодового стресса при использовании различных вариантов диеты

№ группы	Показатель	Статистические показатели		
		Me (25 %–75%)	n	P
1	Относительная ширина пучковой зоны (%)	47.01 (43.23–49.00)	6	$p_{1-2}<0,01^1$
2		35.98 (31.06–37.44)	6	$p_{1-4}>0,05^2$
3		38.47 (34.65–39.11)	7	$p_{2-6}>0,05^2$
4		50.56 (44.40–56.00)	8	$p_{3-4}<0,05^2$
5		30.10 (26.70–38.46)	7	$p_{5-6}>0,05^1$
6		34.25 (28.75–38.99)	7	$p_{3-5}>0,05^1$ $p_{4-6}<0,01^2$ $p_{3-6}>0,05^1$

Примечание: ¹использование критерия Ньюмена-Кейлса, ²использование критерия Данна.

Таким образом, использование натуральных комплексов ФПВ и КЦЖК приводит к увеличению содержания серотонина в тромбоцитах. КЦЖК напрямую или опосредованно усиливают выработку эндогенного серотонина энтерохромаффинными клетками (Karaki S.-H., Kuwahara A., 2010). Далее серотонин действует на структуры гипоталамуса, приводя к снижению выработки АКТГ при стрессе (Vermes I., et.al., 1973, 1974; Miller R., et al., 2012). Соответственно большее количество гранул серотонина сочетается с меньшей шириной пучковой зоны. У молодых крыс на фоне холодового стресса количество гранул серотонина выше, чем у старых животных. Это связано с тем, что у старых животных серотонин в большей степени «потребляется» органами – «мишенями» стресса.

Влияние продуктов симбионтного пищеварения на реакцию лимфоидной ткани селезенки у старых и молодых животных при стрессе

У старых животных постстрессорные изменения лимфоидных органов «наслаиваются» на предшествующие возрастные инволютивные процессы и на элементы «возрастного» и «социального» стресса (Дильман В.М., 1982, 1987; Engler H et. all 2003).

Вес селезенки, соотнесенный с весом животного, до и после холодового воздействия не различался. У старых животных при типовом рационе как минимальное ($p_{3-4} > 0,05$), так и максимальное ($p_{3-4} > 0,05$) значение объема белой пульпы селезенки не изменялось. Отсутствие реакции на холодовой фактор обусловлено, вероятно, предшествующими стресс-воздействиями либо связано с недостаточным временем (два часа) воздействия.

У молодых животных при стрессе минимальное значение объема белой пульпы было существенно выше ($p_{1-4} < 0,05$), а максимальное значение не отличалось ($p_{1-4} > 0,05$) от аналогичных показателей у старых животных. Представленные данные, вероятно, свидетельствуют о наличии возрастной инволюции лимфоидной ткани (Cesta M.F., 2006).

Таблица 3

Возрастные особенности объема белой пульпы селезенки при использовании различных видов диеты в условиях холодового стресса

№ группы	Показатель	Статистический показатель		
		Me (25%–75%)	n	P
1	Минимальное индивидуальное значение объема белой пульпы селезенки (%)	9.05 (6.48–15.07)	6	$p_{1-2} > 0,05^1$
2		16.57 (15.1–17.08)	6	$p_{1-4} < 0,05^2$
3		6.76 (5.78–7.36)	7	$p_{2-6} > 0,05^2$
4		4.98 (3.4–6.00)	7	$p_{3-4} > 0,05^1$
5		18.64 (11.41–22.82)	7	$p_{5-6} > 0,05^2$
6		16.35 (15.23–17.91)	8	$p_{3-5} < 0,05^1$ $p_{4-6} < 0,01^2$ $p_{3-6} < 0,01^2$
1	Максимальное индивидуальное значение объема белой пульпы селезенки (%)	14.39 (12.56–19.31)	7	$p_{1-2} < 0,01^2$
2		20.98 (20.50–23.38)	6	$p_{1-4} > 0,05^1$
3		12.98 (12.54–17.98)	7	$p_{2-6} > 0,05^2$
4		10.78 (8.06–14.66)	7	$p_{3-4} > 0,05^1$
5		25.58 (22.53–26.83)	7	$p_{5-6} > 0,05^2$
6		27.365 (23.35–33.14)	8	$p_{3-5} < 0,01^1$ $p_{4-6} < 0,05^2$ $p_{3-6} < 0,05^2$

Примечание: ¹ использование критерия Ньюмена-Кейлса, ² использование критерия Данна.

Как видно из табл. 3, у животных в возрасте 6 месяцев после холодого воздействия (группы 1 и 2) было отмечено более высокое индивидуальное максимальное значение белой пульпы селезенки в группе, получавшей БАД «Рекицен-РД» ($p_{1-2}<0,01$). Минимальное индивидуальное значение белой пульпы в данных группах не различалось.

Использование натуральных комплексов ФПВ и КЦЖК у старых животных способствовало увеличению как минимального, так и максимального значения объема белой пульпы селезенки в два и более раз. Эту закономерность выявляли вне зависимости от воздействия холодого фактора. Различий между 2 и 6 группами выявлено не было. То есть при стрессе при использовании функционального питания нивелировались возрастные и пост-стрессорные изменения белой пульпы селезенки.

Возрастные аспекты и корреляционные связи объема светлых центров Пейеровых бляшек и ширины пучковой зоны коры надпочечников

У старых животных (рацион вивария, холодое воздействие) объем светлых центров Пейеровых бляшек не различался с контролем ($p_{3-4}>0,05$), а также с аналогичным показателем у молодых животных, находящихся на рационе вивария при стрессе ($p_{1-4}>0,05$). Добавление в корм животных натурального комплекса ФПВ и КЦЖК обеспечило существенное увеличение объема светлых центров Пейеровых бляшек у всех возрастных групп вне зависимости от стресс-воздействия (табл.4).

Таблица 4

Возрастные особенности объема светлых центров Пейеровых бляшек при использовании различных видов диеты при холодоем стрессе

№ Группы	Показатель	Статистический показатель		
		Me (25%–75%)	n	P
1	Удельный объем светлых центров Пейеровых бляшек (%)	38,91 (30,28–44,1)	6	$p_{1-2}<0,01^1$
2		58,8 (54,5–66,04)	6	$p_{1-4}>0,05^2$
3		51,23(20–57,21)	8	$p_{2-6}>0,05^2$
4		38,89(17,82–43,73)	8	$p_{3-4}>0,05^1$
5		58,33(56,45–60)	7	$p_{5-6}<0,05^2$
6		49,52(48,00–54,72)	7	$p_{3-5}<0,05^2$ $p_{4-6}<0,01^2$ $p_{3-6}>0,05^2$

Примечание: ¹использование критерия Ньюмена-Кейлса, ²использование критерия Данна.

Объем светлых центров отрицательно коррелирует с относительной шириной пучковой зоны ($R=-0,4814$, $p=0,0011$) и положительно – с количе-

ством гранул серотонина в тромбоцитах ($R=0,4689$, $p=0,0026$), что свидетельствует о выраженном стресслимитирующем действии серотонина.

Влияние использования натурального комплекса ФПВ и КЦЖК на показатели лейкоформулы при стрессе

У старых животных при типовом рационе на фоне холодового стресса выявили большее общее количество лейкоцитов, по сравнению с животными без холодового воздействия ($p_{3-4}<0,05$). Увеличение количества лейкоцитов происходит в основном за счет нейтрофилов и характеризуется более чем двукратным нарастанием. Это связано с более чем шестикратным нарастанием количества палочкоядерных нейтрофилов ($p_{3-4}<0,05$).

Использование функционального питания у старых животных при стрессе кардинально изменило описанные выше закономерности. Так, увеличения общего количества лейкоцитов не происходит. Отмечается увеличение количества нейтрофилов ($p_{5-6}<0,05$) за счет фракции зрелых нейтрофилов, количество лимфоцитов не изменилось.

Таблица 5

Возрастные изменения количества лейкоцитов крови при использовании различных диет при стрессе

№ группы	Показатель	Статистические показатели		
		Me (25 %-75%)Тыс./мкл	n	P
1	Общее количество лейкоцитов	14,5 (12,50–17.20)	7	$p_{1-2}>0,05^2$
2		8.48 (8.00–12.50)	6	$p_{1-4}<0,05^1$
3		6.15 (6.00–7.10)	8	$p_{2-6}>0,05^2$
4		10.00 (9.50–10.10)	7	$p_{3-4}<0,05^2$
5		6.50 (5.60–8.50)	7	$p_{5-6}>0,05^1$
6		7.40 (7.00–9.20)	7	$p_{3-5}>0,05^1$ $p_{4-6}<0,05^1$ $p_{3-6}>0,05^2$
1	Нейтрофилы	0,78 (0,56–1,60)	7	$p_{1-2}>0,05^2$
2		0,73 (0,66–1,08)	6	$p_{1-4}<0,05^2$
3		0,78 (0,45–1,18)	8	$p_{2-6}>0,05^2$
4		1,76 (1,52–2,10)	6	$p_{3-4}<0,05^2$
5		0,65 (0,52–0,68)	7	$p_{5-6}<0,05^1$
6		0,92 (0,68–1,19)	7	$p_{3-5}>0,05^2$ $p_{4-6}<0,01^2$ $p_{3-6}>0,05^2$

1	Сегментоядерные нейтрофилы	0.41 (0.39–1.12)	6	$p_{1-2}>0,05^1$
2		0.59 (0.52–0.84)	6	$p_{1-4}>0,05^2$
3		0.61 (0.37–0.90)	8	$p_{2-6}>0,05^2$
4		1.08 (0.78–1.41)	7	$p_{3-4}>0,05^2$
5		0.51 (0.39–0.56)	7	$p_{5-6}<0,05^1$
6		0.64 (0.56–0.89)	7	$p_{3-5}>0,05^2$ $p_{4-6}<0,05^1$ $p_{3-6}>0,05^2$
1	Палочкоядерные нейтрофилы	0.39 (0.25–0.73)	7	$p_{1-2}>0,05^2$
2		0.16 (0.13–0.18)	6	$p_{1-4}<0,01^1$
3		0.13 (0.09–0.21)	8	$p_{2-6}>0,05^2$
4		0.81 (0.76–0.96)	7	$p_{3-4}<0,05^2$
5		0.13 (0.11–0.17)	7	$p_{5-6}>0,05^2$
6		0.29 (0.14–0.38)	8	$p_{3-5}>0,05^2$ $p_{4-6}<0,05^2$ $p_{3-6}>0,05^1$
1	Лимфоциты	11.31 (10.88–15.30)	7	$p_{1-2}>0,05^2$
2		7.00 (6.08–10.08)	6	$p_{1-4}<0,01^1$
3		4.25 (3.87–5.09)	8	$p_{2-6}>0,05^2$
4		6.06 (5.24–6.32)	7	$p_{3-4}>0,05^2$
5		4.74 (3.75–6.63)	7	$p_{5-6}>0,05^2$
6		5.89 (4.54–7.38)	8	$p_{3-5}>0,05^2$ $p_{4-6}>0,05^2$ $p_{3-6}>0,05^1$

Примечание: ¹использование критерия Ньюмена-Кейлса, ²использование критерия Данна.

У молодых животных, в сравнении со старыми, при типовом рационе на фоне стресса отмечается увеличение количества лимфоцитов ($p_{1-4}<0,01$) более чем в 2 раза. У старых животных отмечено большее количество нейтрофилов чем у молодых ($p_{1-4}<0,05$) за счет большей (более чем в 2 раза) фракции палочкоядерных нейтрофилов ($p_{1-4}<0,01$).

При использовании функционального питания различия между старыми и молодыми животными нивелируются.

У молодых животных количество лейкоцитов позитивно коррелирует с величиной пучковой зоны надпочечников $R=0,6099$ ($p=0,0268$) и негативно коррелирует с содержанием гранул серотонина в тромбоцитах $R=-0,6542$ ($p=0,0152$). У старых животных количество лейкоцитов позитивно коррелирует с величиной пучковой зоны $R=0,4578$ ($p=0,0109$) и отсутствует корреляция с уровнем серотонина – $R=-0,3682$ ($p=0,0587$).

Таким образом, вне зависимости от вида диеты, вида воздействий, возраста увеличение ширины пучковой зоны надпочечников, отражающее уровень глюкокортикоидов, сочетается с увеличением количества лейкоцитов.

Возрастные особенности модулирующих эффектов натуральных комплексов ФПВ и КЦЖК на соотношение регенерации и повреждения печеночной ткани при стрессе

В отличие от других тканей, печень при стрессе – территория усиления анаболизма, активация которого сопровождается увеличением резистентности организма (Zern M.A., et.al., 1986). При старении уменьшается объем печеночной ткани, снижается ее дезинтоксикационный потенциал и кровоснабжение (Антопольская Е.В., Швейнов И.А., 2006).

У старых животных на типовой диете холодное стресс-воздействие не влияло на содержание делящихся гепатоцитов ($p_{3-4} > 0,05$), а также гепатоцитов с признаками повреждения ($p_{3-4} > 0,05$) (см. табл. 6 и 7).

У молодых животных на типовой диете при стрессе отмечается существенно большее количество гепатоцитов с признаками регенерации, чем у старых ($p_{1-4} < 0,05$). Таким образом, у старых крыс не только имеются инволютивные возрастные процессы печеночной ткани, но и отмечается более низкий регенеративный потенциал гепатоцитов.

Таблица 6

Количество гепатоцитов с признаками повреждения при использовании различных видов диеты в условиях холодного стресса

№ группы	Показатель	Статистический показатель		
		Me (25%–75%)	n	P
1	Процент гепатоцитов с признаками повреждения	34,25 (28,85–38,78)	7	$p_{1-2} < 0,05^2$
2		16,75 (15,91–21,52)	6	$p_{1-4} > 0,05^2$
3		30,45 (24,46–35,55)	7	$p_{2-6} > 0,05^2$
4		30,945 (20,45–37,285)	8	$p_{3-4} > 0,05^2$
5		17,3 (14,32–19,97)	7	$p_{5-6} > 0,05^2$
6		9,675 (8,585–18,98)	8	$p_{3-5} < 0,01^1$ $p_{4-6} < 0,01^1$ $p_{3-6} < 0,01^2$

Примечание: ¹ использование критерия Ньюмена-Кейлса, ² использование критерия Данна.

Применение функционального питания у старых животных способствовало увеличению регенераторного потенциала печеночной ткани более чем в три раза ($p_{3-5} < 0,01$; $p_{4-6} < 0,01$; $p_{3-6} < 0,05$) и достигло уровня регенерации гепатоцитов молодых животных. Использование же натуральных комплексов ФПВ и КЦЖК у молодых животных не сопровождалось сдвигами регенеративного потенциала гепатоцитов (табл. 7).

При использовании функционального питания, содержащего натуральные комплексы ФПВ и КЦЖК, как у старых, так и у молодых животных вы-

раженность явлений повреждения существенно снизилась ($p_{1-2}<0,05$; $p_{3-5}<0,01$; $p_{4-6}<0,01$; $p_{3-6}<0,01$) (табл. 6).

Различий между группами по относительному количеству клеток Купфера у молодых и старых животных выявлено не было.

У молодых животных (совокупность 1-й и 2-й групп) ширина пучковой зоны коры надпочечников положительно коррелирует с количеством клеток с проявлениями повреждения ($R=0,5824$; $p=0,0367$) и с количеством 2–3-ядерных гепатоцитов ($R=0,76$, $p=0,0021$). Таким образом, стрессорное воздействие, приводящее к увеличению ширины пучковой зоны, усиливает повреждение гепатоцитов, что компенсируется усилением их регенерации.

У старых животных (общая совокупность с 3 по 6 группу) установлена положительная корреляция между количеством клеток с признаками повреждения и шириной пучковой зоны коры надпочечников ($R=0,4186$, $p=0,0191$), а между шириной пучковой зоны и количеством 2–3-ядерных гепатоцитов выявлена умеренная отрицательная корреляция ($R=-0,36$, $p=0,0452$). Таким образом, у старых животных при стрессе ширина пучкового слоя коры надпочечников позитивно коррелирует с повреждением гепатоцитов и сопровождается снижением их регенерации.

Таблица 7

Возрастные особенности процессов регенерации печеночной ткани при использовании различных видов диеты в условиях холодового стресса

№ группы	Показатель	Статистический показатель		
		Me (25%–75%)	n	P
1	%2–3 ядерных гепатоцитов	5,35 (4,95–8,85)	7	$p_{1-2}>0,05^1$
2		4,67 (2,21–4,9)	6	$p_{1-4}<0,05^2$
3		2,5 (1,27–3,63)	7	$p_{2-6}>0,05^2$
4		3,125 (1,21–3,575)	8	$p_{3-4}<0,05^2$
5		10,96 (9,34–13,25)	7	$p_{5-6}>0,05^2$
6		8,8 (6,8–9,705)	8	$p_{3-5}<0,01^1$ $p_{4-6}<0,01^1$ $p_{3-6}<0,01^2$

Примечание: ¹использование критерия Ньюмена-Кейлса, ²использование критерия Данна.

Таким образом, у молодых животных увеличение количества делящихся гепатоцитов при увеличении ширины пучковой зоны носит компенсаторный характер. У старых животных эта компенсаторная реакция отсутствует, так как между аналогичными показателями отмечена отрицательная корреляция. При использовании функционального питания, включающего БАД «Рекицен-РД», этот компенсаторный феномен в условиях стресса восстанавливается, что выражается в значительном увеличении делящихся клеток. Та-

ким образом, после добавления в диету старых животных комплекса ФПВ и КЦЖК происходит восстановление регенераторного потенциала печеночной ткани при стрессорном воздействии.

При анализе корреляционных взаимосвязей внутри общей совокупности животных (с 1-й по 6-ю группы) количество гранул серотонина в тромбоцитах отрицательно коррелирует с количеством гепатоцитов с признаками повреждения ($R=-0,5228$, $p=0,0008$). Между количеством гранул серотонина и количеством делящихся гепатоцитов была выявлена положительная корреляция у старых животных (совокупность с 3-й по 6-ю группы) ($R=0,4076$, $p=0,0388$), а у молодых животных (совокупность 1-й и 2-й групп) данная корреляция отсутствовала ($R=-0,2724$, $p=0,368$).

Выявленная позитивная корреляция между количеством гранул серотонина и количеством делящихся гепатоцитов свидетельствует о позитивном влиянии на регенерацию печени натурального комплекса ФПВ и КЦЖК, поскольку использование БАД «Рекицен-РД» способствует увеличению количества гранул серотонина в тромбоцитах.

Исследование корреляционных взаимосвязей между КЦЖК крови и морфофункциональными показателями при стрессе

При анализе взаимосвязей между уровнем КЦЖК крови и морфофункциональными показателями установлены взаимосвязи, которые зависят (1-я группа) и не зависят (2-я группа) от рациона животных.

К первой группе, например, относится положительная корреляция между объемом светлых центров Пейеровых бляшек и концентрацией мономера капроновой кислоты ($R_{2,5,6}=0,5299$, $p=0,0112$; $R_{1,3,4}=0,5274$, $p=0,0117$), а также корреляция уровня изокапроновой кислоты с количеством лейкоцитов ($R_{2,5,6}=0,4325$, $p=0,0444$; $R_{1,3,4}=0,4732$, $p=0,0261$) и лимфоцитов ($R_{2,5,6}=R=0,5154$, $p=0,0141$; $R_{1,3,4}=R=0,509$, $p=0,0154$).

Вторая группа взаимосвязей подразделяется в зависимости от рациона. Так, у животных, получавших типовой рацион ($n=22$), объем светлых центров Пейеровых бляшек коррелирует с уровнем изомасляной кислоты ($R_{1,3,4}=0,4624$, $p=0,0263$), а у получавших БАД «Рекицен-РД» ($n=21$) – с концентрацией изокопроновой кислоты ($R_{2,5,6}=0,4428$, $p=0,0391$).

У животных на типовом рационе максимальное значение объема белой пульпы селезенки позитивно коррелирует с концентрацией мономера и изомера масляной кислоты ($R_{1,3,4}=0,438$, $p=0,047$; $R_{1,3,4}=0,6099$, $p=0,0033$), также этот показатель позитивно коррелировал с концентрацией уксусной кислоты

($R_{1,3,4}=0,6872$, $p=0,0008$). Следует отметить, что и уровень изомасляной кислоты позитивно коррелировал с минимальным значением объема белой пульпы селезенки ($R_{1,3,4}=0,5081$, $p=0,0221$).

При использовании комплекса ФПВ и КЦЖК уровень валериановой кислоты положительно коррелировал с количеством гепатоцитов с признаками повреждения ($R_{2,5,6}=0,4497$, $p=0,0357$). При типовом рационе данный морфологический показатель позитивно коррелировал с уровнем капроновой кислоты ($R_{1,3,4}=0,4416$, $p=0,045$). Вероятно, эти КЦЖК обеспечивают и негативный контроль за объемом печени в разных условиях.

Различия в корреляционных взаимосвязях между группами, находящимися на типовом рационе вивария, и группами, получавшими в дополнение к основному рациону БАД «Рекицен-РД», связаны с особенностями выработки и метаболизма КЦЖК.

Как видно из изложенного выше, при использовании типового рациона, выявлен широкий спектр позитивно регулирующих влияний метаболитов симбионтного пищеварения на состояние органов лимфоидной системы. Вероятно, это связано с развитием относительного дефицита КЦЖК в этой ситуации. При добавлении в диету натурального комплекса ФПВ и КЦЖК эта закономерность нивелируется. Это положение подтверждается улучшением регенеративного потенциала лимфоидной и печеночной ткани при дополнении к типовому рациону БАД «Рекицен-РД».

Влияние натуральных комплексов ФПВ и КЦЖК на уровень устойчивости к стрессу старых крыс

Как видно из результатов, представленных в табл. 8, различий горизонтальной активности внутри первой группы, а также между исходным фоном и 2-й группой выявлено не было ($pW_{1-1}=0,4967$, $pU_{1-2}=0,2845$). При анализе размаха данного показателя получены более однородные показатели относительно исходного фона в группах после использования функционального питания ($p_{\text{тмф}1-1}=0,0198$, $p_{\text{тмф}1-2}=0,0325$). Это свидетельствует о модулирующем действии данного варианта диеты. При исследовании вертикальной активности в открытом поле не установлено различий между группами ($pW_{1-1}=0,2026$, $pU_{1-2}=0,6965$). При исследовании размаха результатов в выборке более однородные результаты получены во второй группе ($p_{\text{тмф}1-2}=0,0325$). Внутри первой группы по однородности данный показатель не различался ($p_{\text{тмф}1-1}=0,0867$) с исходным фоном. Установлено уменьшение времени вы-

хода из центрального квадрата при использовании функционального питания ($pW_{1-1}=0,007$, $pU_{1-2}=0,0435$).

Как видно из таблицы при анализе общего количества уринаций и дефекаций, различий между исходным фоном и второй группой выявлено не было ($pU_{1-2}=0,2775$). При анализе различий внутри первой группы отмечено уменьшение данного показателя ($pW_{1-1}=0,0495$) после кормления БАД «Рекицен-РД». В отношении однородности данного показателя следует отметить, что достоверные различия получены внутри первой группы ($p_{\text{тмф } 1-1}=0,0325$), в отношении второй группы данный показатель не отличался по однородности относительно исходного фона ($p_{\text{тмф } 1-2}=0,1409$).

Таблица 8

Влияние натуральных комплексов ФПВ и КЦЖК на поведение животных в открытом поле

Показатель	1 группа (исходный фон) Ме (25–75%)	1 группа (после 18 дней кормления БАД «Рекицен-РД») Ме (25–75%)	2-ая группа Ме (25–75%)
Количество пересеченных квадратов	50 (9–59)	19,5 (12–35)	47 (42–60)
Количество вертикальных стоек	13 (3–18)	8,5 (1–13)	13 (13–14,5)
Количество уринаций и дефекаций	3,5 (1–4)	0,5 (0–1)*	2 (0–3)
Время выхода из центрального квадрата (сек)	4,5 (2–8)	1 (1–4)**	1 (1–1)*
Время длительного груминга (сек)	11,5 (3–22)	55 (4–108)*	39 (28–77)**
Количество актов короткого груминга	0 (0–1)	0 (0–1,5)	0,5 (0–1)

* $p<0,05$ в сравнении с исходным фоном; ** $p<0,01$ в сравнении с исходным фоном.

При использовании диеты, включающей натуральные комплексы ФПВ и КЦЖК, увеличилось время длительного груминга ($pW_{1-1}=0,0284$, $pU_{1-2}=0,0021$). Количество актов короткого груминга не различалось ($pW_{1-1}=0,7998$, $pU_{1-2}=0,8965$). Представленные данные свидетельствуют о снижении тревожности и страха в открытом поле после использования функционального питания.

Механизм действия функционального питания обусловлен увеличением резистентности к стрессорным факторам из-за увеличения активности серотонинэргических структур и нормализации тонуса вегетативной нервной системы.

При старении происходит нарастание в крови провоспалительных цитокинов (Тодоров И.Н., Тодоров Г.И., 2003). Провоспалительные цитокины

закономерно увеличивают активность системы гипоталамус-гипофиз-кора надпочечников на всех уровнях (Silverman M.N., et al., 2003; Vukelic S., et al., 2011), активируя закономерности стресса. ИЛ-1 β вызывает изменение поведения, характерное для депрессии, активацию осей стресса (Smith R.S., 1991) и уменьшение ориентировочно-исследовательской активности в открытом поле (Симбирцев А.С. и др., 2009). Кроме того, провоспалительные цитокины активируют индоламин-2,3-диоксигеназу, разрушающую триптофан. Это приводит к снижению синтеза серотонина (Козлова С.Н. и др., 2009). Ранее (Кузнецов В.Ф., и др., 2006) было установлено, что применение натуральных комплексов ФПВ и КЦЖК нормализует уровень провоспалительных цитокинов. В этом исследовании было доказано, что используемый вариант функционального питания при стрессе увеличивает количество гранул серотонина в тромбоцитах. Так же имеются данные о регулирующем влиянии КЦЖК на тонус симпатического отдела вегетативной нервной системы, что было продемонстрировано в клинических наблюдениях (Телегин Ю.А., и др., 2002). Это, по-видимому, является основой механизма снижения уровня тревожности при тестировании в открытом поле.

Выводы

1. Установлены возрастные особенности острого холодового стресса у крыс старше 1,5 лет в сравнении с животными в возрасте 6 месяцев, проявляющиеся в снижении активности серотонинэргических структур, объема белой пульпы селезенки и регенеративной активности гепатоцитов, а также увеличении лейкоцитов крови за счет палочкоядерных нейтрофилов. У животных в возрасте 6 месяцев и старше 1,5 лет отмечен и ряд общих признаков стресса, проявляющихся в виде увеличения ширины пучковой зоны коры надпочечников, уменьшения объема светлых центров Пейеровых бляшек, увеличения количества поврежденных гепатоцитов.

2. Установлено, что обогащение типового рациона натуральными комплексами ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот способствует устранению негативных последствий стресса и возрастных различий, проявляющемуся в восстановлении клеточного состава крови, увеличении содержания серотонина в тромбоцитах, уменьшении гиперплазии пучковой зоны коры надпочечников. Объем белой пульпы селезенки увеличивается, а количество гепатоцитов с признаками повреждения снижается в большей степени у старых животных. Регенераторный потенциал гепатоцитов возрос у старых животных.

3. Особенности корреляционных взаимосвязей концентрации короткоцепочечных жирных кислот в крови с морфофункциональными показателями при комбинированном стрессе зависят от наличия или отсутствия в диете натурального комплекса ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот, которые выполняют позитивную или негативную регуляторную роль.

4. Установлено, что функциональное питание у старых животных при изучении их поведения в открытом поле приводит к уменьшению времени выхода из центрального квадрата, увеличению времени груминга, снижению количества актов уринации и дефекации. Это свидетельствует об уменьшении степени тревоги и страха в новых нетипичных условиях.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Кузнецов В.Ф. Функциональное питание и стресс /В.Ф. Кузнецов, П.В. Косарева, С.В. Кузнецов, Л.М. Кулемин // Тезисы докладов XXI съезда физиологического общества им. И. П. Павлова, 19–25 сентября 2010 г. Калуга. – М.-Калуга, 2010. – С. 324.

2. Загоскина Т.П. Комплексы ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот в функциональном питании при неходжкинских лимфомах / Т.П. Загоскина, В.Ф. Кузнецов, Л.М. Кулемин, С.В. Кузнецов // Там же. – С. 217–218.

3. **Кузнецов В.Ф. Клинико-лабораторное обоснование использования ферментированных пищевых волокон при интоксикации вызванной металлами и ароматическими углеводами / В.Ф. Кузнецов, Л.М. Кулемин, Т.С. Уланова, М.А. Землянова, С.В. Кузнецов // Омский научный вестник. – 2010. – № 1(94) приложение. – С. 67–69.**

4. Кузнецов В.Ф. Значение пищевых волокон и метаболитов симбионтного пищеварения в обеспечении гомеостаза и адаптации / В.Ф. Кузнецов, С.В. Кузнецов, Л.М. Кулемин // Актуальные проблемы потребительского рынка товаров и услуг: материалы Всеросс. конф. с междунар. участием, посвященной 10-летию ф-та экспертизы и товароведения ГОУ ВПО КГМА, 18 февраля 2011. – Киров, 2011. – С. 314–316.

5. Кузнецов В.Ф. Функциональное питание, включающее ферментированные пищевые волокна (БАД «Рекицен-РД»), и врожденный иммунитет / В.Ф. Кузнецов, П.В. Косарева, С.В. Кузнецов, Ю.Н. Маслов, Н.Л. Негодяева, Т.П. Обернебесова // Материалы науч. сессии 2011 года, посвященной 95-летию высш. мед. образования на Урале и 80-летию Перм. гос. мед. академии им. академика Е. А. Вагнера. – Пермь, 2011. – С. 106–108.

6. Кузнецов С.В. Функциональное питание и стресс без дистресса / С.В. Кузнецов, В.Ф. Кузнецов, В.П. Хоринко, Л.М. Кулемин // Там же. – С.108–110.

7. Кузнецов С.В. Возрастные особенности влияния комплексов ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот на формирование проявлений дистресса / С.В. Кузнецов, В.Ф. Кузнецов, В.П. Хоринко, Л.М. Кулемин // Циркумполярная медицина: влияние факторов окружающей среды на формирование здоровья человека: материалы междунар. науч.-практ. конф. 27–29 июня 2011. – Архангельск: Изд-во Северного гос. мед. ун-та. – 2011. – С. 172–176.

8. **Кузнецов В.Ф. Функциональное питание и адаптивные возможности организма / В.Ф. Кузнецов, П.В. Косарева, С.В. Кузнецов, Л.М. Кулемин // Аллергология и иммунология. – 2011. – Т. 12, №1.– С. 113–114.**

9. Кузнецов С.В. Функциональное питание и модуляция параметров врожденного иммунитета / С.В. Кузнецов, В.Ф. Кузнецов, Л.М. Кулемин // Аллергология и иммунология. – 2011. – Т. 12, №1.– С. 114.

10. Кулемин Л.М. Физиологические аспекты использования комплексов ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот (Рекицен-РД) при функциональном питании / Л.М. Кулемин, В.Ф. Кузнецов, С.В. Кузнецов, Н.И. Одинцов // Материалы X междунар. науч.-практ. конф. «Лекарство и здоровье человека», 13–14 октября 2011 г. / Астрахан. гос. мед. академия. – Астрахань, 2011. – С. 66–70.

11. Кузнецов С.В. Возрастные особенности соотношения регенерации и повреждения гепатоцитов крыс при стрессе и патогенетические аспекты их коррекции / С.В. Кузнецов, В.Ф. Кузнецов, В.П. Хоринко, Л.М. Кулемин // Пермский медицинский журнал. – 2012. – Т.29, № 3. – С. 84–92.

12. Кузнецов В.Ф. Пищевые волокна и метаболиты симбионтного пищеварения в обеспечении гомеостаза и адаптации / В.Ф. Кузнецов, С.В. Кузнецов, Л.М. Кулемин // Медицинский альманах. – 2012. – Т.20, № 1. – С. 84–85.

13. Кузнецов С.В. Влияние продуктов симбионтного пищеварения на регенерацию и повреждение печени у старых и молодых животных при стрессе / С.В. Кузнецов, В.Ф. Кузнецов, В.П. Хоринко, Л.М. Кулемин // Материалы XI Астрахан. науч.-практ. конф. с междунар. участием «Лекарство и здоровье человека» 11–12 октября 2012. – Астрахань, 2012. – С.65–68.

14. Кузнецов В.Ф. Нормализация отдельных показателей иммунограммы у пациентов с рецидивирующими воспалительными процессами различной локализации / В.Ф. Кузнецов, С.В. Кузнецов, Н.Л. Негодяева // Там же. – С. 68–71.

15. Кузнецов С.В. Продукты симбионтного пищеварения и коррекция соотношения серотонина крови, маркеров повреждения и регенерации гепатоцитов старых крыс при стрессе / С.В. Кузнецов // Медицинский альманах. – 2012. – Т.23, № 4. – С.168–70.

16. Кузнецов С.В. Влияние натуральных комплексов ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот на поведение старых крыс при эмоциональном стрессе / С.В. Кузнецов, В.Ф. Кузнецов // Современные геронтологические технологии: от диагностики до реабилитации: материалы Всеросс. конф. «Современные геронтологические технологии: нарушения обмена веществ и патология опорно-двигательного аппарата», 28–29 ноября 2012. – Пермь, 2012. – С. 42–47.

17. Кузнецов С.В. Возрастные аспекты формирования дистресса в эксперименте / С.В. Кузнецов, В.Ф. Кузнецов, В.П. Хоринко, Л.М. Кулемин // Там же. – С. 48–53.

18. Кузнецов С.В. Влияние натуральных комплексов ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот на уровень устойчивости к стрессу старых крыс / С.В. Кузнецов // Пермский медицинский журнал. – 2012. – Т. 29, № 3. – С.73–79.

19. Кузнецов С.В. и др. Адаптация человека к экологическим и социальным условиям Севера: монография / колл. авт.; отв. ред. Е. Р. Бойко; Ин-т физиологии Коми НЦ УрО РАН. – Сыктывкар – Екатеринбург, 2012. – 443 с.

Список сокращений, использованных в автореферате

АКТГ – адренокортикотропный гормон

БАД – биологически активная добавка

КЦЖК – короткоцепочечные жирные кислоты

ПВ – пищевые волокна

ТМФ – точный двусторонний метод Фишера

ФПВ – ферментированные пищевые волокна

ИЛ – интерлейкин

Me – медиана

U – двусторонний (точный) критерий Манна – Уитни

R – метод Спирмена

W – критерий Вилкоксона.

КУЗНЕЦОВ СТЕПАН ВАЛЕРЬЯНОВИЧ

**ЗНАЧЕНИЕ МЕТАБОЛИТОВ СИМБИОНТНОГО
ПИЩЕВАРЕНИЯ ПРИ СТРЕССЕ**

14.03.03 – патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Автореферат напечатан по разрешению профильной комиссии ГБОУ
ВПО УГМА Минздрава России от 13 мая 2013 года